

육포에서 *Clostridium perfringens*의 정량적 미생물 위해평가

남건우¹ · 김수진¹ · 윤기선^{1,*}

¹경희대학교 식품영양학과

Quantitative microbial risk assessment of *Clostridium perfringens* in beef jerky

Gun Woo Nam¹, Su Jin Kim¹, and Ki Sun Yoon^{1,*}

¹Department of Food and Nutrition, Kyung Hee University

Abstract We developed a quantitative microbial risk assessment model for determining the effect of seasoning on *Clostridium perfringens* behavior in beef jerky under aerobic and anaerobic conditions. *C. perfringens* was not detected (<0.5 log CFU/g) in beef jerky samples (n=275), regardless of storage conditions or the presence of seasoning. Survival models of *C. perfringens* on beef jerky were developed as a function of temperature (10, 17, 25, and 35°C). Risk of *C. perfringens* due to the consumption of beef jerky was estimated with @RISK and FDA-iRISK. The probability of foodborne illness due to *C. perfringens* through consumption of seasoned, vacuum packed beef jerky was estimated to be 2.77×10^{-16} per person per day. Overall, the risk of contamination of beef jerky with *C. perfringens* is very low.

Keywords: beef jerky, microbial risk assessment, predictive model of *C. perfringens*, aerobic and vacuum packing, seasoning

서 론

국민소득의 증대, 소비자 기호의 다양화, 편리성 및 고급화 추세에 따라 육포와 같은 건조저장육류에 대한 소비가 점차 증가하고 있다(Park과 Lee, 2005). 육포는 식육을 그대로 또는 이에 식품 또는 식품첨가물을 첨가하여 건조 또는 열처리한 것을 말하며 수분함량이 55% 이하(육함량 85% 이상의 것)인 식품이라 정의된다(MFDS, 2018a). 국내 식육가공업 시장은 약 4조 8천억원의 규모이며 특히 육포는 2015년 기준으로 약 1천억 원 이상의 시장규모를 형성하고 있어 전 세계적으로 고부가가치 품목으로 떠오르고 있다(Ko 등, 2016; MFDS, 2017). 육포는 제조사에 따라 다양한 원료(우육, 돈육 및 계육), 공정과정, 양념 및 첨가물 여부에 따라 오프라인 매장과 온라인에서 다양한 유통경로 및 환경을 거쳐 140종 이상의 다양한 제품들이 판매되고 있다. 그러나 증가하는 시장규모에 비해 육포의 제조, 유통 및 소비현황에 대한 보고가 거의 없는 실정이며 특히 미생물학적 안전성에 대한 모니터링 데이터, 유통환경에서 품질과 안전성을 확보할 수 있는 방안과 연구가 매우 부족한 실정이다.

정량적 미생물 위해평가(Quantitative Microbial Risk Assessment, QMRA)는 미생물을 위해요소로 고려하여 어떤 특정 병원성 미생물에 의해 오염된 식품을 섭취했을 때 그 병원성 세균에 의해 질병이 일어날 가능성을 과학적으로 분석하는 평가방법이

다(WHO/FAO, 2016). QMRA는 유해 미생물의 안전관리기준 설정 및 관리방안 등 미생물 기준규격을 설정하는데 활용되어질 수 있다(Ko 등, 2012). 현재 국내에서 육포의 미생물 기준규격은 세균수의 경우 멸균/살균 식육가공품에 한하여 음성이여야 하며, *Clostridium perfringens* 등 6가지 식품 식중독세균에 대해 일괄적으로 음성(n=5, c=0, m=0/25 g)으로 관리되고 있다(MFDS, 2018b). 미생물 기준규격은 미생물학적 안전성을 확보한다는 점에서는 매우 중요하나 제품에서의 미생물의 발생가능성 및 심각성을 고려하지 않은 지나친 기준 규격은 관련 산업체의 발전을 저해할 수 있다는 문제점이 있다. 따라서 미생물 위해평가를 통해 제품의 공정 또는 유통과정 중 관리해야 할 부분을 정확히 판단하여 안전관리를 개선해야 한다.

국내 QMRA 연구에서는 노출평가에서 중요한 역할을 담당하게 될 일부 식중독 원인세균에 대한 성장예측모델개발 연구가 주로 진행됐고 즉석섭취식품인 김밥, 샌드위치에서 *Staphylococcus aureus* (Bahk 등, 2006)와 신선채소류에서 *Listeria monocytogenes* (Cho, 2012), 햄 및 소시지류와 치즈에서 *C. perfringens*의 QMRA 연구가 진행되었다(Ko 등, 2012; Lee 등, 2016).

iRISK는 FDA에서 개발한 온라인상의 대화형 웹 기반 위해평가 도구이다. 식품과 위해요소(미생물 또는 화학물질)의 조합 간 위해정도를 신속하고 효율적으로 비교할 수 있고, 식품안전관리의 우선순위 및 관리방안을 제시할 수 있다. 또한 위해요소에 따른 위험성을 식품별, 공정별 등 다각적으로 비교 평가하여 식품 생산/공급 체인의 일부 또는 모든 단계에 따라 리스크와 관리방법을 비교할 수 있고, 입력된 모든 시나리오는 몬테카를로 시뮬레이션을 바탕으로 리스크 시나리오로 추정된다(Chen 등, 2013; FDA, 2017).

본 연구에서는 최근 소비가 증가하고 있는 육포의 제조 시 사용되는 양념의 첨가 여부 및 유통되는 포장방법이 육포에서 *C.*

*Corresponding author: Ki Sun Yoon, Department of Food and Nutrition, Kyung Hee University, Seoul 02453, Korea
Tel: +82-2-961-0264
Fax: +82-2-961-0261
E-mail: ksyoon@khu.ac.kr
Received October 15, 2018; revised November 21, 2018;
accepted November 22, 2018

*perfringens*에 의한 리스크에 미치는 영향 및 안전관리방안을 설정하기 위해 정량적 미생물 위해평가를 수행하였다. 본 위해평가 연구결과를 통해 미생물학적 안전성을 확보하기 위해 식육 및 식육가공품에서 문제가 되는 *C. perfringens*에 대한 현재의 음성기준규격의 적합성을 재평가하고자 하였다.

재료 및 방법

미생물 분석

온라인 및 오프라인에서 판매유통되는 육포 275개의 제품을 구매하여 *C. perfringens*의 초기오염수준(initial contamination level)을 조사하였다. 시료 25 g을 멸균적으로 취하여 225 mL의 펩톤수를 가하고 2분간 균질화한 후 10배 단계 희석액을 만들었다. 시험용액 및 단계별 희석액 1 mL씩을 2배 이상의 멸균 페트리접시에 무균적으로 분주하고 난황을 첨가하지 않은 TSC 배지(Tryptose Sulfite Cycloserine Agar, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) 10-15 mL를 가하여 좌우로 돌리면서 잘 혼합한 후 응고시켰다. 응고된 배지 위에 다시 한 번 10 mL를 가하여 중첩시킨 후 혐기 챔버(Whitley DG250 Workstation, Don Whitley Scientific, West yorkshire, UK)를 사용하여 36°C에서 24시간 동안 혐기조성(CO₂ 10%, H₂ 5%, N₂ 85%)에서 배양하였다. 배양 후 150개 이하의 전형적인 검은색 집락이 확인된 평판을 선별하여 각 집락수를 계수하였다.

C. perfringens 생존 예측모델 개발

실험에 사용된 균주는 알파독소(α -toxin)를 생성하는 *C. perfringens* (KCCM 12098)로써 한국미생물보존센터(KCCM)에서 분양 받았고 Reinforce clostridial medium (RCM; Oxoid, Basingstoke, UK)으로 계대 배양하여 -80°C에서 보관하였다. -80°C에서 보관된 *C. perfringens*는 실험을 위해 해동시킨 후, 5 mL의 살균된 RCM 배지에 50 μ L를 접종하고 혐기 챔버 내에서 36°C에서 24시간 동안 전 배양하였다. 육포에서 *C. perfringens* 예측모델 개발을 위해서 시중에서 판매되는 제품형태와 포장방법을 고려하여 양념이 첨가되지 않은 오리지닐 제품과 양념이 첨가된 제품으로 구분하였으며 각각 호기 및 진공포장으로 분류하여 모델을 개발하였다. 10 g의 오리지닐 및 양념 육포를 멸균적으로 채취하여 페트리접시에 담은 후, *C. perfringens* 100 μ L를 표면에 접종하여 초기 오염농도를 약 5-6 log CFU/g 수준이 되도록 하였다. 접종된 육포는 신속히 폴리에틸렌 필름(20×30×0.05 cm)에 담아 호기와 진공(FR-A100WG, CSE Company, Korea)으로 나누어 포장한 뒤 10, 17, 25, 35°C에서 각각 보관하며 *C. perfringens* 행동 특성을 분석하였다.

오리지널 및 양념 육포에서 시간에 따른 *C. perfringens* 1차 행동예측 모델을 개발하기 위해 Gina FiT V1.5 프로그램의 Weibull model을 활용하여 생존모델을 개발하였다(Geeraerd 등, 2005). Weibull model의 parameter로 delta (미생물이 초기농도에서 1 log CFU 감소하는데 걸리는 시간)와 p (그래프 모양)를 산출하였다.

$$\text{Weibull equation: } p = \text{Log} (N_0) - (t/\text{delta})^2$$

N₀: 미생물의 초기 오염농도; t: 시간; delta: 초기 오염농도에서 1 log CFU로 감소하는데 걸리는 시간; p: 그래프 모양

1차 모델에서 얻은 delta와 p를 활용하여 오리지닐 및 양념 육포에서 온도에 따른 *C. perfringens*의 2차 행동예측 모델은 Graph Pad Prism V4.0 (Graph Pad Software, San Diego, CA, USA)을

사용하여 Davey model (Davey 등, 1989)을 활용하여 개발하였다.

$$Y = a + (b/T) + (c/T^2)$$

Y: delta, p; a, b, c: 상수; T: 온도

모델 적합성 검증

C. perfringens 영양세포로 개발된 생존예측모델을 *C. perfringens* 포자의 생존특성을 예측하는데 활용 가능성을 검증하기 위해 *C. perfringens* 포자액을 다음과 같이 준비하였다. 전배양한 *C. perfringens* (KCCM 12098) 200 μ L를 10 mL의 Fluid thioglycollate medium (FTG, Oxoid, Basingstoke, UK)에 접종하고 항온수조 (Water bath)에서 75°C에서 40분간 열처리(heat shock)를 가한 뒤 36°C에서 18시간 동안 배양시켰다. 배양액 1 mL를 다시 새로운 10 mL의 Fluid thioglycollate medium에 접종 후 36°C에서 4시간 동안 배양한 후, Modified Duncan and Strong (DS) medium 10%에 해당하는 균액을 접종하고 36°C에서 48시간 동안 배양하였다. Modified DS medium은 1.5% 프로테오스펩톤(proteose peptone, Difo Laboratories, Detroit, MI, USA), 0.4% 효모추출물(Oxoid, Basingstoke, UK), 0.1% 싸이오글리콜산소듐(sodium thioglycolate), 0.4% 라피노스(replacing starch), 1% 인산소듐(sodium phosphate), 100 μ L 카페인(0.51 mM/mL)을 첨가하여 제조하였다(Park 등, 2014). 이후, 생존예측모델개발 방법과 동일하게 제품별(양념별) 및 포장별로 구분하여 22°C와 32°C에서 *C. perfringens* 포자의 행동을 관찰하였다.

육포의 섭취패턴

육포의 섭취량은 식품의약품안전처(MFDS, 2018b) 연구에서 1,500명을 대상으로 수행한 “식육 및 식육가공품의 섭취량 및 섭취패턴 자료 설문조사” 결과를 바탕으로 @RISK 프로그램을 활용하여 적정 분포모델을 결정했다. 육포의 1일 평균섭취량은 51.83 g이며, 섭취량의 적정 분포모델은 ‘RiskBetaGeneral Distribution’으로 결정하였다(Fig. 1). 섭취빈도는 ‘먹지 않음=0’, ‘월 1회=0.25’, ‘월 2-3회=0.625’, ‘주 1회=1’, ‘주 2-3회=2.5’, ‘매일 1회=7’로 환산하여 계산하였고 계산 결과, 육포 1일 섭취빈도는 0.61%로 매우 낮게 나타났다.

C. perfringens 용량반응 모델

*C. perfringens*의 용량반응 모델은 현재까지 영양세포를 섭취 후 설사가 발생할 가능성을 추정된 Golden(2009)의 Exponential 모델이 유일하여 이를 용량-반응모델로 이용하였다(Golden 등, 2009).

$$P = 1 - \exp(-r \times N), (r = 1.82 \times 10^{-11})$$

P: *C. perfringens*의 질병 발생가능성; r: 하나의 세포에 의해 질병이 발생할 수 있는 확률; N: *C. perfringens*의 섭취로 노출된 세포의 양

RISK Excel sheet

오리지널 및 양념 육포의 섭취로 인한 *C. perfringens*에 의한 식중독 발생확률을 추정하기 위해 수식과 입력변수(Input)는 Excel (Microsoft@ Excel 2010, Microsoft Corp., USA) spreadsheet 프로그램을 이용하여 시나리오 모델을 구축하였으며, 개발된 모델은 @RISK 7.5 (Palisade Corp.)를 사용하여 위해도를 산출하였다(Table 1). Sampling type은 Median Latin Hypercube sampling을, Generator seed는 Random 방법을 선택하였고, Iteration (반복시행

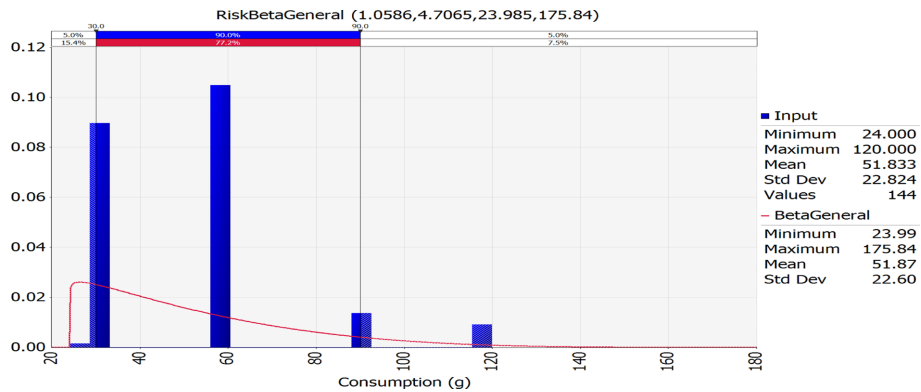


Fig. 1. Probabilistic distribution for beef jerky intake using @RISK 7.5.

횟수) 10,000 이상의 결과를 최종적인 시뮬레이션 결과로 이용하였다. 시뮬레이션 결과에 대한 영향요인 분석은 @RISK의 민감도분석(sensitivity analysis) 기능을 이용하여 상관계수를 산출하였다(Ko 등, 2012).

FDA-iRISK model sheet

육포의 양념 유무 및 포장상태가 *C. perfringens*의 리스크에 미치는 영향을 비교하기 위해 FDA-iRISK를 활용한 입력 데이터 값은 Table 2와 같다. 육포의 초기오염수준에서 *C. perfringens*는 검출되지 않아 초기오염도빈도 값은 0.001%로 가정하였고 검출농도는 최소 -2 log CFU/g에서 최대 0.5 log CFU/g의 오염수준을 설정하였다. 육포에서 양념 유무와 포장상태(호기/진공)에 따른 *C. perfringens*의 생존 예측모델은 Weibull model에서 얻은 1차 생존예측 지표인 델타 값을 활용하였다(Table 3). 섭취모델에서 섭취량을 나타내는 1회 섭취량은 육포의 평균섭취량인 51.83 g을 입력하였고, 섭취빈도/횟수를 나타내는 연간 섭취빈도는 육포의 섭취빈도인 0.61% 데이터를 활용하였다(MFDS, 2018). *C. perfringens*의 용량-반응모델은 Exponential model ($r=1.82 \times 10^{-11}$)을 활용하였고, 질병으로 인한 건강에 미치는 부담 정도를 나타내는 DALYs per case 값은 선행연구를 통해 얻은 0.008을 입력하였다(Haagsma 등, 2016).

통계 분석

본 실험은 SAS Software, version 9.4 (SAS Institute, Inc., Cary, NC)를 활용하여 온도별 포장조건(호기/진공)을 달리한 오리지널 및 양념 육포의 델타, p값 차이에 대해 t-검정(t-test) 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

육포에서 *C. perfringens*의 오염실태조사

시중에서 판매되고 있는 오리지널 및 양념 육포에서 *C. perfringens*의 오염실태를 파악하기 위해 대형마트(n=120), 제래시장(n=30), 온라인 전용몰(n=125)에서 제품을 각각 구매하였다. 초기오염수준에 대한 정량시험결과에서 오리지널 및 양념 모든 제품에서 *C. perfringens*는 오염되어 있지 않은 것으로 나타났으며, 정성시험에서도 모든 제품에서 의심 집락은 검출되지 않았다.

육포 *C. perfringens*의 생존예측 모델개발

오리지널 및 양념 육포에서 *C. perfringens*는 온도에 상관없이

모두 생존하는 것으로 나타났다. *C. perfringens*의 생존예측 parameter에 대한 결과는 Fig. 2와 Table 3과 같다. 보관온도인 10, 17, 25, 35°C에서 호기포장된 오리지널 육포에서 *C. perfringens*의 델타 값은 온도가 높아짐에 따라 비례적으로 감소하는 경향을 나타냈다. 그러나 온도가 낮아질수록 호기포장보다 진공포장에서 오리지널 및 양념 육포에서 모두 *C. perfringens*가 천천히 사멸하며 더 오랫동안 생존하는 것으로 나타났으며 특히 10°C에서 호기포장과 진공포장사이의 델타 값에 유의적($p < 0.05$) 차이가 있는 것으로 확인되었다. 본 연구에서 사용한 생존모델인 Weibull model에서의 p값은 그래프 모양을 나타내는 값으로 1보다 큰 p값은 집중초기에 미생물 군수가 천천히 사멸하는 형태인 convex curve를 나타내고, 1보다 작은 p값은 집중초기 미생물 군수가 급속히 사멸하는 형태인 concave curve를 나타낸다(Albert와 Mafart, 2005). 육포에서 *C. perfringens*의 생존모델의 p 값은 모두 1보다 작은 값으로 양념의 여부 및 포장방법에 상관없이 모든 온도에서 *C. perfringens*는 급격히 사멸하는 것으로 나타났다.

*C. perfringens*는 온도에 따라 최저 6°C부터 최대 50°C까지 성장할 수 있으며(McClane, 1997), 0.93-0.97 범위의 a_w 및 6.0-7.0의 pH에서 성장할 수 있다(Bartsch와 Walker, 1982). 15°C에서 호기포장으로 보관한 cooked ground turkey에서 *C. perfringens*는 시간이 지남에 따라 사멸하고, 진공포장에서는 성장하는 것이 관찰되었다(Juneja 등, 1994). 일반적으로 육류에서 진공포장법은 호기성 세균의 성장과 생존을 조절할 수 있다. 최근 발표된 연구결과에 따르면 쇠고기에서 *C. perfringens*는 22°C에서 혐기 및 미호기 조건에서 각각 5 log CFU/g과 1 log CFU/g이 증가하였지만, 7°C에서 혐기, 미호기 그리고 호기조건에서 모두 사멸하였다(Qadiri, 2015). 그러나 본 연구에서는 고온(35°C)과 진공포장 저장 조건의 육포에서 *C. perfringens*의 생장은 관찰되지 않았다. 이와 같은 결과는 본 실험에 사용된 오리지널 및 양념 육포의 a_w 는 각각 0.78과 0.75로써, 육포의 낮은 수분 활성도 때문에 *C. perfringens*의 생장이 저지된 것으로 사료된다. *S. aureus*와 *L. monocytogenes*는 21°C에서 진공포장된 육포(a_w 0.73-0.87)에서 보관 4주 동안 생존하였지만(Ingham 등, 2006), 10°C에서 호기와 진공포장된 족발에서 *C. perfringens*가 모두 사멸하고, 보관기간이 길어질수록 진공포장에서 더 오랫동안 생존하는 것을 관찰한 연구와 비슷한 경향의 결과를 보였다(Park 등, 2014).

또한, 본 연구에서는 오리지널과 양념 제품간의 *C. perfringens*의 생존에는 큰 차이가 없었다. Bae 등(2012)의 연구결과에 따르면, 양념이 첨가된 데친 시금치에서는 양념이 첨가되지 않은 제품보다 *B. cereus*의 성장에 있어 유도기(lag time, LT)가 늦고 최

Table 1. Simulation model and formulas programmed in Excel spreadsheet to estimate the risk of *C. perfringens* in beef jerky with @RISK

Symbol	Unit	Definition	Formula	References
Pathogens contamination level				
IC	log CFU/g	Initial contamination level	=RiskUniform (-2, 0.5)	This research
Market storage				
Mark-time	h	Storage time in the market	=RiskUniform (0, 1440)	Personal communication
Mark-temp	°C	Storage temperature in the market	=RiskUniform (0, 25)	Personal communication
Predictive model				
delta ₁	h	Beef jerky without seasoning	Aerobic =1.983+(4.809/T)+(720.9/T ²) Vacuum =3.680+(-124.5/T)+(2739/T ²)	This research: Davey 등, 1989
		Beef jerky with seasoning	Aerobic = -1.693+(66.07/T)+(767.6/T ²) Vacuum = -7.071+(262.5/T)+(-212.4/T ²)	
p		fixd	=0.6	This research
C ₁	log CFU/g	Contamination level of <i>C. perfringens</i> in the market	=IC-(Mark-time/delta ₁) ^p	This research: Mafart 등, 2002
Transportation				
Trans-time	h	Time (market to home)	=RiskPert (0.33, 0.813, 1.171)	Jung, 2011
Trans-temp	°C	Storage temperature during transportation	=RiskUniform (15, 25)	Jung, 2011
Predictive model				
delta ₂	h	Beef jerky without seasoning	Aerobic =1.983+(4.809/T)+(720.9/T ²) Vacuum =3.680+(-124.5/T)+(2739/T ²)	This research: Davey 등, 1989
		Beef jerky with seasoning	Aerobic -1.693+(66.07/T)+(767.6/T ²) Vacuum -7.071+(262.5/T)+(-212.4/T ²)	
p		fixd	=0.6	This research
C ₂	log CFU/g	Contamination level of <i>C. perfringens</i> during transportation	=C ₁ -(Trans-time/delta ₂) ^p	Mafart 등, 2002
Home storage				
Home-time	h	Storage time until consumption	=RiskPert (0,123.2,720)	This research: MFDS, 2016
Home-temp	°C	Storage temperature until consumption	=RiskUniform (0,25)	Personal communication
Predictive model				
delta ₃	h	Beef jerky without seasoning	Aerobic =1.983+(4.809/T)+(720.9/T ²) Vacuum =3.680+(-124.5/T)+(2739/T ²)	This research: Davey 등, 1989
		Beef jerky with seasoning	Aerobic -1.693+(66.07/T)+(767.6/T ²) Vacuum -7.071+(262.5/T)+(-212.4/T ²)	
p		fixd	=0.6	This research
C ₃	log CFU/g	Contamination level of <i>C. perfringens</i> during at home	=C ₂ -(Home-time/delta ₃) ^p	Mafart 등, 2002
Consumption				
Consump	g	Daily consumption average amount	=RiskBetaGeneral (1.0586, 4.7065, 23.985, 175.84)	MFDS, 2018b
ConFre	%	Daily consumption frequency	fixed 0.61	MFDS, 2018b
CF(0)		Daily non-consumption frequency (rate)	=1-0.61/100	MFDS, 2018b
CF(1)		Daily consumption frequency (rate)	=0.61/100	MFDS, 2018b
CF		Distribution for consumption frequency	=RiskDiscrete ({0, 1}, {CF(0), CF(1)})	MFDS, 2018b
Amount		Daily consumption average amount considered frequency	=IF (CF=0, 0, Consump)	MFDS, 2018b
Dose-Response				
D		<i>C. perfringens</i> amount	=10 ^{C3} ×Amount	Golden 등, 2009
r		Parameter of r	=1.82×10 ¹¹	
Risk				
Risk		Probability of illness/person/day	=1-EXP(-r*D)	Golden 등, 2009

Table 2. Model input for beef jerky-*C. perfringens* scenarios in iRISK

Element of risk scenario	<i>C. perfringens</i> on the beef jerky, total population			
	Input parameter, iRISK template	Model input	Reference	
Food	Beef jerky	Description		
Hazard	<i>C. perfringens</i>	Description		
Process model	Initial prevalence	0.001	This research; Personal communication	
	Initial concentration	Uniform (-2, 0.5) log CFU		
	Initial unit mass	Unit mass 100g		
	Partitioning	100g		
	Duration	0-1440 h		
Predictive model (Survival)	Beef jerky without seasoning	Aerobic	Uniform (1.84,9.65)	This research; Davey 등, 1989
		Vacuum	Uniform (2.10,18.54)	
	Beef jerky with seasoning	Aerobic	Uniform (1.04,12.56)	
		Vacuum	Uniform (0.81,16.98)	
Consumption model	Grams per eating occasion	51.83g	MFDS, 2016	
	Eating occasions per year	0.61		
Dose-response model	Exponential model	$r=1.82 \times 10^{-11}$	Golden 등, 2009	
Health effects	DALY template (<i>C. perfringens</i>)	0.008 DALYs per case	Haagsma 등, 2016	

대생성밀도(maximum population level, MPD)도 낮은 것으로 나타났다(Bae 등, 2012). 또한, Farber 등(1995)은 0.4%의 향신료를 첨가한 liver pate (meat spread)에서 향신료를 첨가하지 않은 시료보다 *L. monocytogenes*의 성장속도가 느리고 유도기가 빠르며, 최대생성밀도가 더 낮았음을 나타내어 양념 유무가 미생물의 성장에 차이를 나타냄을 확인할 수 있었다.

C. perfringens 행동예측모델 검증

*C. perfringens*는 포자를 형성할 수 있는 균으로 공정단계에서 영양세포와 포자가 공존할 가능성이 높고 조리된 식육가공품에서 부적절한 냉각이나 보관 등으로 인하여 포자가 발아할 가능성을 가지기 때문에 그 관리가 매우 중요하다. 본 연구에서는 오리지널 및 양념 육포에서 *C. perfringens* 영양세포 생존특성을 예

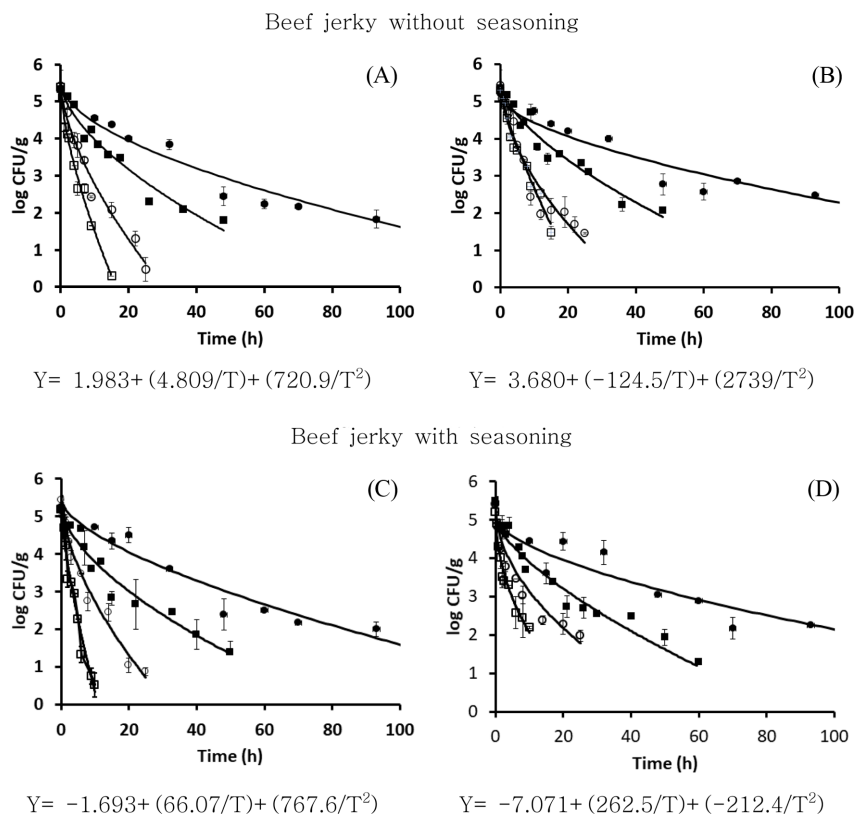


Fig. 2. Primary survival models of *C. perfringens* on beef jerky under seasoning and packing conditions (●): 35°C, (■): 25°C, (○): 17°C, (□): 10°C.

Table 3. Survival kinetic parameter of *C. perfringens* on beef jerky under seasoning and packing conditions

Temperature (°C)	Packing	Beef jerky without seasoning		Beef jerky with seasoning	
		delta (h)	p	delta (h)	p
10	Aerobic	9.65±2.61	0.58±0.09	12.56±1.49	0.64±0.12
	Vacuum	18.54±2.00*	0.62±0.11	16.98±2.79	0.60±0.14
17	Aerobic	4.93±0.21	0.61±0.84	5.08±2.49	0.60±0.11
	Vacuum	6.37±0.51	0.63±0.65	8.22±3.25	0.68±0.12
25	Aerobic	3.02±0.27	0.93±0.35	1.76±0.61	0.59±0.07
	Vacuum	2.10±0.36	0.36±0.01	2.03±2.03	0.51±0.23
35	Aerobic	1.84±0.78	0.71±0.06	1.04±0.40	0.71±0.11
	Vacuum	2.87±0.60	0.60±0.21	0.81±0.39	0.47±0.08

*Significantly different at $p < 0.05$ by t-test.

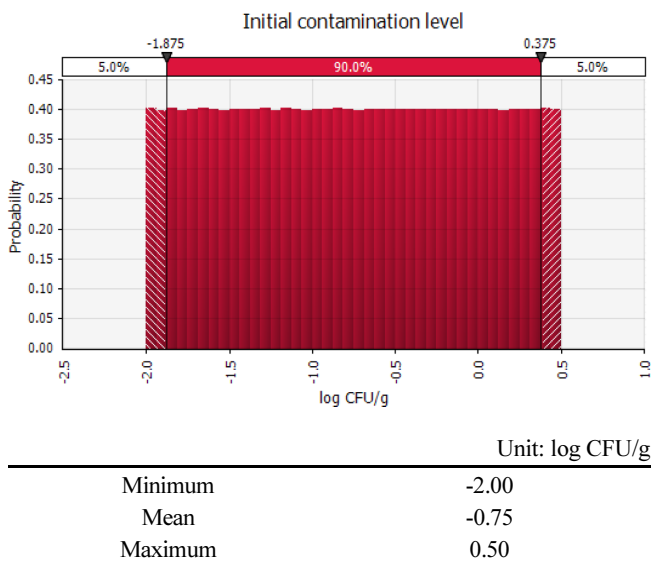


Fig. 3. Probability distribution of initial contamination level of *C. perfringens* on beef jerky under various processing and storage conditions.

측할 수 있는 모델에서 *C. perfringens* 포자의 생존특성도 예측할 수 있는지를 검증하였다. 호기조건에서 22, 32°C에 보관된 오리지널 육포에서 *C. perfringens* 포자의 델타 값은 각각 5.76, 2.35 h로 나타났고, 혐기조건에서는 각각 4.76, 3.62 h로 나타났다. 양념 육포의 경우 *C. perfringens* 포자의 델타 값은 호기포장에서 22, 32°C에서 각각 5.76, 1.92 h로 나타났고, 진공포장에서는 각각 4.76, 2.16 h로 나타났다. 실험 결과 양념의 첨가 여부에 상관없이 포장상태에 따른 *C. perfringens* 포자의 델타 값은 영양세포와 큰 차이는 없었지만, 영양세포와 비교하여 포자는 보관기간이 길어질수록 육포에서 더 오랜 시간 생존할 수 있었으며 특히 호기보다 진공포장에서 더 오래 생존함을 관찰하였다. 특히, 22°C의 경

우 오리지널 및 양념 육포는 모두 진공포장 된 제품에서 최대 218 h (약 9일)까지 포자가 생존함을 확인했다.

@RISK를 활용한 육포에서 *C. perfringens*의 정량적 위해평가

본 연구에서는 @RISK 라는 프로그램을 사용하여 육포에서 *C. perfringens*의 정량적 위해평가를 수행하였다. 첫 번째 입력 변수로 오리지널 및 양념 육포에서 *C. perfringens*의 초기 오염수준은 검출농도(concentration level)를 고려하여 Uniform distribution을 활용하여 추정하였다. Uniform distribution은 발생 가능성이 동일한 값에 대한 분포로, 이용 가능한 자료가 아주 적거나 없는 경우일 때 대략적인 모델이며, 오염도 조사 시 세균이 검출되지 않았을 때, 세균수가 검출 한계 이하로 존재하는 것으로 가정하여 오염 가능 수준을 추정할 때 사용되는 분포(distribution)이다. 본 연구에서 분석한 오리지널 및 양념 육포(n=275)에서 *C. perfringens*는 모두 검출되지 않았다. 따라서 본 연구에서는 최소 -2 log CFU/g 부터 검출한계(<0.5 log CFU) 값을 uniform distribution (-2, 0.5)을 활용하여 초기오염농도로 설정하였다. @RISK를 활용하여 추정한 결과, 오리지널 및 양념 육포에서 *C. perfringens* 초기 오염수준은 평균적으로 -0.75 log CFU/g로 분포하는 것으로 나타났다(Fig. 3).

다음으로 유통 단계를 거치면서 *C. perfringens*의 최종 오염수준(CFU/g)의 군수 변화와 가정에서 육포의 1일 섭취량과 섭취빈도를 고려하여 소비자가 최종적으로 섭취하게 되는 *C. perfringens* 양을 추정하여 1일 1인에게서 *C. perfringens*에 의한 식중독 발생 확률은 Table 4와 같다. @RISK 프로그램을 이용하여 반복시행 횟수 10,000번 이상의 결과를 최종적인 위해도 데이터로 활용하였고 그 결과, 현재 시중에서 최악의 시나리오의 저장 조건에서 보관되고 호기와 진공포장으로 판매되고 있는 오리지널 육포를 섭취하였을 경우, 1일 1인에게서 *C. perfringens*에 의한 식중독 발생 확률은 각각 평균 5.57×10^{-17} , 1.79×10^{-16} 으로 나타났다. 또한 양념 육포를 섭취하였을 경우, 1일 1인에게서 *C. perfringens*에 의한 식중독 발생 확률은 각각 평균 1.61×10^{-17} , 2.77×10^{-16} 으로 나

Table 4. Probability of illness per day per person by *C. perfringens* with consumption of beef jerky with @RISK scenario

Probability of illness/person/day		Min	25%	Mean	95%	Max
Beef jerky without seasoning	Aerobic	0	0	5.57×10^{-17}	0	2.38×10^{-14}
	Vacuum	0	0	1.79×10^{-16}	0	1.73×10^{-12}
Beef jerky with seasoning	Aerobic	0	0	1.61×10^{-17}	0	1.43×10^{-13}
	Vacuum	0	0	2.77×10^{-16}	0	1.32×10^{-12}

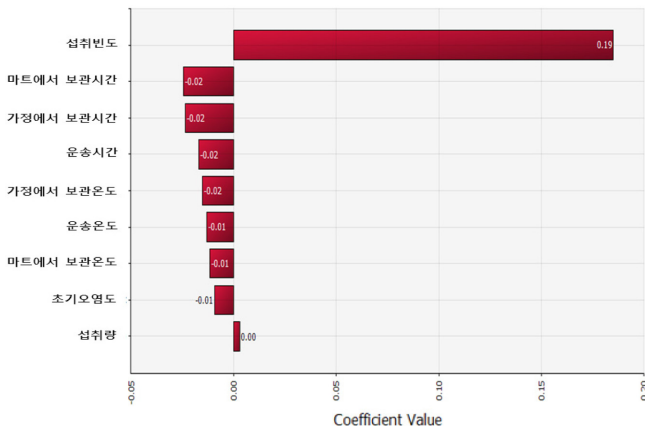


Fig. 4. The regression coefficient for sensitivity analysis affecting illness by *C. perfringens* with consumption of beef jerky with @RISK.

타났다. 이와 같은 결과는 육포에서 *C. perfringens*에 의한 식중독 발생 확률은 매우 낮고 위해도도 매우 낮은 것으로 확인되었다. 그러나 최종 위해도 추정 결과, 호기보단 진공포장된 오리지널 및 양념 육포에서 *C. perfringens*에 의한 위해도가 상대적으로 높은 것으로 나타났다. 자연치즈와 가공치즈에 오염된 *C. perfringens*의 섭취로 인해 1일 1인의 식중독 발생 확률은 9.57×10^{-14} 와 3.58×10^{-14} 로 추정되었고(Lee 등, 2016), 햄 및 소시지류에서 *C. perfringens*에 의한 식중독 발생 확률은 평균 3.97×10^{-11} 인 것으로 추정되었는데(Ko 등, 2012), 본 연구결과에 따르면 육포섭취에 따른 *C. perfringens*에 의한 식중독 발생 확률은 햄 및 소시지류 보다 낮은 것으로 나타났다. 또한 호주에서 가공된 고기와 조리소시지는 각각 1.00×10^{-8} 과, 7.06×10^{-9} 의 발생확률이 추정되었다(Ross 등, 2009).

민감도 분석(Sensitivity analysis)

민감도분석은 결과 변수(초기오염도, 유통환경조건, 섭취량, 섭취빈도 등에 입력변수들이 미치는 영향력의 크기를 분석하는 방법이며, 위해관리를 위한 우선순위를 결정하고자 할 때 유용하게 사용된다. 민감도 분석을 통해 *C. perfringens*의 위해수준에 대한 영향요인을 분석한 결과는 다음 Fig. 4와 같다. 오리지널 및 양념 육포에서 *C. perfringens* 위해도의 가장 큰 영향을 미치는 요인은 모두 육포의 섭취빈도로 나타났다.

FDA-iRISK를 활용한 육포에서 *C. perfringens* 위해평가

FDA-iRISK는 식품과 위해요소(미생물 또는 화학물질)의 조합간 위해정도를 비교하여 신속하고 효율적으로 식품안전관리를 위한 관리 우선순위를 선정할 수 있는 장점이 있다. 따라서 포장상태(호기/진공)에 따른 오리지널 및 양념 육포와 *C. perfringens*의 조합간 관리 우선순위를 위한 위해도 추정 및 리스크 순위 비교

분석 결과는 다음 Table 5와 같다. 오리지널 및 양념 육포에 오염된 *C. perfringens*로 인해 일어나는 연간 질병 확률을 의미하는 Total No. of Illnesses는 호기/진공포장된 오리지널 육포에서 각각 1.79×10^{-12} , 3.23×10^{-12} 와 양념 육포에서 4.12×10^{-12} , 5.34×10^{-12} 으로 나타나 진공포장된 양념 육포에서 *C. perfringens*로 인해 발생할 수 있는 연간 질병 확률이 가장 높은 것으로 나타났으나 그 차이는 매우 미미한 것으로 확인되었다. DALYs (Disability-Adjusted Life Years, 질병손실년수)를 섭취빈도 및 횟수로 나눠 섭취빈도와 횟수에 따라 얻게 되는 질병부담 정도인 DALYs Per EO or Consumer는 호기/진공 포장된 양념 육포에서 각각 5.59×10^{-14} , 7.25×10^{-14} 으로 나타나, 진공 포장된 육포 섭취 시 *C. perfringens*로 인해 얻게 되는 질병 부담 정도가 더 높은 것으로 나타났다. Mean Risk of Illnesses와 연간 섭취 빈도를 합하여 DALYs 손실로 변환한 Total DALYs Per Year은 육포를 섭취 시 연간 *C. perfringens*에 의해 1년에 얻게 되는 질병부담 정도(년수)를 추정할 수 있다. 호기/진공포장된 오리지널 육포에서 *C. perfringens*로 인해 연간 각각 1.43×10^{-14} (년), 2.59×10^{-14} (년)와 양념 육포에서 3.30×10^{-14} (년), 4.27×10^{-14} (년)의 질병부담을 얻게 됨을 나타냈다. 따라서 FDA-iRISK를 통해 포장상태(호기/진공)에 따른 오리지널 및 양념 육포에 오염된 *C. perfringens* 의해 얻게 되는 위해 정도는 @RISK를 이용해 분석한 결과와 마찬가지로 진공포장된 양념 육포를 섭취했을 때 얻을 수 있는 질병 발생확률 및 부담 정도가 가장 높은 것으로 나타났으나 그 차이 역시 매우 미미한 것으로 확인되었다. 따라서 FDA-iRISK를 사용 시 좀 더 쉽게 위해평가를 수행할 수 있음을 확인하였으며 육포제조과정에서 *C. perfringens* 오염 시 포장방법을 통해 그 리스크를 저감화 할 수 있음을 확인 할 수 있었다.

요 약

본 연구에서는 육포제조 시 사용된 양념의 여부 및 포장 방법에 따라 *C. perfringens*에 의한 육포의 안전 관리방안을 위해 정량적 미생물 위해평가를 수행하였다. 서울소재 대형마트 및 재래시장에서 판매되는 275종의 오리지널 및 양념 육포에서 *C. perfringens*의 오염수준을 분석한 결과, 모든 제품에서 *C. perfringens*는 검출되지 않았으나 보관온도(10, 17, 25, 35°C)에서 *C. perfringens* 오염되었을 경우 포장조건(호기/진공)을 달리한 오리지널 및 양념 육포에서 모두 생존하는 것으로 나타났다. 육포에 @RISK를 활용한 위해도 추정결과, 진공포장된 양념 육포에서 식중독 발생확률이 2.77×10^{-16} 으로 추정되었다. 또한 FDA-iRISK를 활용하여 육포의 위해도 및 관리순위를 비교한 결과, 진공포장된 양념 육포의 섭취를 통하여 *C. perfringens*에 의해 질병 발생확률과 질병에 의한 부담정도(DALYs)도 또한 가장 큰 것으로 나타났다. 포장조건(호기/진공)을 달리한 오리지널/양념 제품 중 진공포장된 양념 육포에서 *C. perfringens*에 의한 식중독 발생 가능성이 상대적으로 가장 높아 우선관리 대상임을 알 수 있었지

Table 5. FDA-iRISK risk estimates of *C. perfringens* in beef jerky under various processing and storage conditions

Sample	Risk ranking	Packing	Total No. of Illnesses	Mean Risk of Illness	DALYs Per EO or Consumer	Total DALYs Per Year
Beef jerky with seasoning	1	Vacuum	5.34×10^{-12}	9.06×10^{-12}	7.25×10^{-14}	4.27×10^{-14}
	2	Aerobic	4.12×10^{-12}	6.98×10^{-12}	5.59×10^{-14}	3.30×10^{-14}
Beef jerky without seasoning	3	Vacuum	3.23×10^{-12}	5.48×10^{-12}	4.39×10^{-14}	2.59×10^{-14}
	4	Aerobic	1.79×10^{-12}	3.03×10^{-12}	2.42×10^{-14}	1.43×10^{-14}

만, 전반적으로 *C. perfringens*가 오염된 육포의 섭취에 의한 식중독 발생가능성은 매우 낮았다. 본 연구결과는 현재 육포에서 *C. perfringens*의 음성으로 관리하는 미생물학적 기준설정 제고에 대한 과학적 근거자료로 활용 할 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2016년도 식품의약품안전처 용역연구개발과제의 연구개발비 지원(16162MFDS584)에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

References

- Albert I, Mafart P. A modified Weibull model for bacterial inactivation. *Int. J. Food Microbiol.* 100: 197-211 (2005)
- Bae YM, Kim BR, Lee SY, Cha MH, Park KH, Chung MS, Ryu K. Growth and predictive model of *Bacillus cereus* on blanched spinach with or without seasoning at various temperatures. *Food Sci. Biotechnol.* 21: 503-508 (2012)
- Bahk GJ, Hong CH, Oh DH, Ha SD, Park KH, Todd ECD. Modeling the level of contamination of *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat food Kimbab in Korea. *J. Food Prot.* 69: 1340-1346 (2006)
- Bartsch A, Walker H. Effect of temperature, solute and pH on the tolerance of *Clostridium perfringens* to reduced water activities. *J. Food Sci.* 47: 1754-1755 (1982)
- Chen Y, Dennis SB, Hartnett E, Paoli G, Pouillot R, Ruthman T, Wilson M. FDA-iRISK-A comparative risk assessment system for evaluating and ranking food-hazard pairs: Case studies on microbial hazards. *J. Food Prot.* 76: 376-385 (2013)
- Cho JL. Microbial risk assessment of *Listeria monocytogenes* in Korean ready-to-eat foods. MS Thesis, Chung-ang National University, Anseong, Korea (2012)
- Davey KR. A predictive model for combined temperature and water activity on microbial growth during the growth phase. *Appl. Microbiol.* 67: 483-488 (1989)
- Farber JM, McKellar RC, Ross WH. Modelling the effects of various parameters on the growth of *Listeria monocytogenes* on liver pt. *Int. J. Food Microbiol.* 12: 447-453 (1995)
- Food and Drug Administration (FDA). General audience. FDA-iRISK 4.0: a Comparative Risk-Assessment Tool. Available from: <http://foodrisk.org/exclusives/fda-irisk-acomparative-riskassessment-tool/>. Accessed Aug. 7, 2017
- Geeraerd AH, Valdramidis VP, Van Impe JF. GInaFiT, a freeware tool to assess non-log-linear microbial survivor curves. *J. Food Microbiol.* 102: 95-105 (2005)
- Golden NJ, Crouch EA, Latmer H, Kadrt AR, Kause J. Risk assessment for *Clostridium perfringens* in ready-to-eat and partially cooked meat and poultry products. *J. Food Prot.* 72: 1370-1384 (2009)
- Haagsma JA, Graetz N, Bolliger I, Naghavi M, Higashi H, Mullany EC, Ameh EA. The global burden of injury: incidence, mortality, disability-adjusted life years and time trends from the global burden of disease study 2013. *J. Inj. Prev.* 22: 3-18 (2016)
- Ingham SC, Searls G, Mohanan S, Buege DR. Survival of *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* on vacuum-packaged beef jerky and related products stored at 21°C. *J. Food Prot.* 69: 2263-2267 (2006)
- Juneja VK, Call J, Marmer B, Miller A. The effect of temperature abuse on *Clostridium perfringens* in cooked turkey stored under air and vacuum. *Food Microbiol.* 11: 187-193 (1994)
- Jung H. Consumer survey and hazard analysis for the improvement of food hygiene and safety in purchase. MS Thesis, Korea University, Seoul, Korea (2011)
- Ko KB, Kang DG, Kim JS, Ryu YC. Current status of the global Jerky market and the strategy for jerky product development in Korean market. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* 5: 36-41 (2016)
- Ko EK, Moon JS, Wee SH, Bahk GJ. Quantitative microbial risk assessment of *Clostridium perfringens* on ham and sausage products in Korea. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* 32: 118-124 (2012)
- Lee HY, Lee SM, Kim SJ, Lee JY, Ha JM, Yoon YH. Quantitative Microbial Risk Assessment for *Clostridium perfringens* in Natural and Processed Cheeses. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 29: 1188-1196 (2016)
- Mafart P, Couvert O, Gailard S, Leguerinel I. On calculating sterility in thermal preservation methods: application of the Weibull frequency distribution model. *Int. J. Food Microbiol.* 72: 107-113 (2002)
- McClane BA. *Clostridium perfringens*. In Food microbiology : fundamentals and frontiers. M. P. Doyle, L. R. Buechat and T. J. Montville (eds.) ASM Press, Washington, DC (1997)
- Ministry of Food and Drug Safety (MFDS). Food and food additive code. Available from: https://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/03_02.jsp?idx=37#. Accessed Nov. 30, 2018a
- Ministry of Food and Drug Safety (MFDS). Microbial risk assessment for *Campylobacter* spp. in meat and processed meat products. Available from: <http://www.ndsl.kr/ndsl/search/detail/report/reportSearchResultDetail.do?cn=TRKO201700017553>. Accessed Feb. 05, 2018b
- Ministry of Food and Drug Safety (MFDS). Established statistical production of processed livestock products in 2016. Available from: http://www.prism.go.kr/homepage/origin/retrieveOriginDetail.do?sessionId=52559882ECA72FC019C9DD0E9C4A10F0.node02?pageIndex=4&research_id=1471000-201700042&cond_organ_id=1471000&leftMenuLevel=120&cond_research_name=&cond_research_start_date=&cond_research_end_date=&pageUnit=10&cond_order=3. Accessed Oct. 11, 2017
- Ministry of Food and Drug Safety (MFDS). Food intake for microbial risk assessment. Available from: http://www.nifds.go.kr/brd/m_278/view.do?seq=5388&srchFr=&srchTo=&srchWord=&srchTp=&itm_seq_1=0&itm_seq_2=0&multi_itm_seq=0&company_cd=&company_nm=&page=1. Accessed Oct. 08, 2016
- Park HJ, Park KC, Yoon KS. Effect of Rooibos (*Aspalathus linearis*) on Growth Control of *Clostridium perfringens* and Lipid Oxidation of ReadytoEat Jokbal (Pig's Trotters). *J. Food Sci.* 79: M2507-M2515 (2014)
- Park JH, Lee KH. Quality characteristics of beef jerky made with beef meat of various places of origin. *Korean J. Food Cook. Sci.* 21: 528-535 (2005)
- Qadiri AL. Effect of oxygen stress on growth and survival of *Clostridium perfringens*, *Campylobacter jejuni*, and *Listeria monocytogenes* under different storage conditions. *J. Food Prot.* 78: 691-697 (2015)
- Ross T, Rasmussen S, Fazil A, Paoli G, Sumner J. Quantitative risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meats in Australia. *Int. J. Food Microbiol.* 131: 128-137 (2009)
- World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations(WHO/FAO). Guidelines on Hazard Characterization for Pathogens in Food and Water. Available from: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/42693/1/9241562374.pdf>. Accessed Oct. 08, 2016